

## P-025

**Effects of basic amino acids in Ames test**

Kenichiro Suzuki, Shoji Masumori, Makoto Hayashi

*Public Interest Incorporated Foundation Biosafety Research Center*

We reported that arginine or lysine significantly increased the number of revertant colonies of TA100 and TA98 strains in the 40<sup>th</sup> meeting in 2011.

In this study, our purpose is to collect the mutagenic reference data for the Ames tests using the test substances containing amino acids. To evaluate the gene mutation inducibility of arginine and lysine, Ames tests were performed in TA1535, TA1537 and WP2uvrA strains. Furthermore, we prepared a mixture of arginine and lysine and examined the influence of Ames tests with the mixture using TA100 and TA98 strains.

As the results, no obvious increase in the number of revertant colonies was observed, as compared with that in the negative control, for three strains treated with arginine or lysine either with or without metabolic activation (-S9 or +S9 assay). Moreover, mixture of arginine and lysine significantly increased the number of revertant colonies of TA100 strain ( $\pm$ S9) in the ratios of 1.77.

In this meeting, we would also report the detailed results of other amino acids.

**塩基性アミノ酸による Ames 試験への影響**

鈴木 健一郎、益森 勝志、林 真

公益財団法人食品農薬薬品安全性評価センター

我々は、2011 年、第 40 回大会にて、Ames 試験実施時に TA100, TA98 株においてアルギニンおよびリシンを添加することで復帰変異コロニー数が増加することを報告した。

本研究では、アミノ酸を含む被験物質の変異原性を Ames 試験で評価する際の参考データの収集を目的とし、復帰変異コロニー数の増加が認められたアルギニンおよびリシンについて、より詳細な情報を得るため TA1535, TA1537 および WP2uvrA 株を用いて Ames 試験を実施した。さらに、アルギニンおよびリシンの混合物を調製し、混合物での Ames 試験への影響を TA100 および TA98 株を用いて検討した。

その結果、アルギニンおよびリシン添加時の TA1535, TA1537 および WP2uvrA 株では復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。また、アルギニンおよびリシン混合物では、TA100 株の  $\pm$  S9 処理において復帰変異コロニー数の増加（最大で 1.77 倍）が認められた。

本大会では、その他のアミノ酸の影響についても詳細に報告する。

## P-026

**The study of the modified Ames assay for amino acid containing material (treat & wash assay) II**

Kumiko Kawakami, Saki Negishi, Emi Masubuchi, Keita Sonohara, Hajime Sui

*Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center*

Treat & wash assay reported by C. Thompson (Mutagenesis 20, 2005) is known as the modified Ames assays which evaluate the mutagenicity of amino acid containing material. We have been studied about the usefulness of this assay. In this study, we focused on the vehicle concentration and pre-incubation time, and examined the effects of these experimental conditions.

The known mutagens (AF-2, 4NQO, 2AA, B[a]P, and 9,10-dimethylanthracene) were used as the test compounds. DMSO was used as the vehicle. The dosing formulations containing 0, 50 and 100 vol% of DMSO were prepared, and then added to the 15-mL centrifuge tube. Pre-incubation was performed for 0, 20, 60 or 90 minutes at 37°C. The tubes were centrifuged after pre-incubation, and then the bacteria treated were overlaid onto a minimal glucose agar plate. The revertant colonies on the agar plate were counted after incubation.

We report that the point for the vehicle concentration during the pre-incubation and pre-incubation time used in the Treat & wash assay.

**アミノ酸含有物質のための改良 Ames 試験 (Treat & Wash 法) の検討 II**

川上 久美子、根岸 沙記、増渕 恵美、園原 啓太、須井 哉

一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所

アミノ酸を含有する被験物質の変異原性を Ames 試験で評価する方法として、C. Thompson らによる Treat & Wash 法が知られており (Mutagenesis 20, 2005)、その有用性について検討を行ってきた。今回、その中から、媒体濃度とプレインキュベーション時間に着目し、検討を行った。

検討には既知の変異原物質 (AF-2, 4NQO, 2AA, B[a]P, 9,10-ジメチルアントラセン) を用いた。媒体には DMSO を用いた。遠心管に添加する変異原物質調製液 0.1 mL 中の DMSO 濃度が 0, 50 あるいは 100 vol% になるように調製液を調製し、15 mL 遠心管に加えた。プレインキュベーションは、37°C で 0, 20, 60 あるいは 90 分を行った。プレインキュベーション後、遠心操作により上清を除去し、沈渣 (菌) を最少グルコース寒天平板培地に流し固めた。平板培養後、復帰変異コロニー数を計測し、結果を比較した。

今回、Treat & Wash 法の実施において注意すべき点 (プレインキュベーション中の媒体濃度およびプレインキュベーション時間) について報告する。